

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1899-1900. — N° 124

TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE

DE

QUELQUES POISSONS ET DE LA GRENOUILLE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

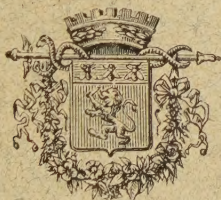
et soutenue publiquement le 12 mai 1900

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

M. MOREY (Albert),

Né à Sormery (Yonne), le 10 mars 1868.



LYON

IMPRIMERIE L. BOURGEON

7, rue des Marronniers

—
1900

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1899-1900. — N° 124

TUBERCULOSE EXPÉRIMENTALE

DE

QUELQUES POISSONS ET DE LA GRENOUILLE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 12 mai 1900.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

M. MOREY (Albert),

Né à Sormery (Yonne), le 10 mars 1868.



LYON

IMPRIMERIE L. BOURGEON

7, rue des Marronniers

—
1900

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

M. LORTET	DOYON.
M. LACASSAGNE	ASSESEUR.
M. CROLAS	QUESTEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES MM. PAULET, CHAUVÉAU, BERNE.

PROFESSEURS	
Cliniques médicales	MM. LÉPINE. BONDET. BARD. OLLIER. PONCET. FOCHIER. GAYET. GAILLETON. PIERRET. MONOYER. HUGOUNENQ. CAZENEUVE. FLORENCE. LORTET. TESTUT. RENAUT. MORAT. TEISSIER. AUGAGNEUR. MAYET. TRIPIER. POLLOSSON (M.) ARLOING. LACASSAGNE. COURMONT. SOULIER. CROLAS.
Cliniques chirurgicales	
Clinique obstétricale et Accouchements	
Clinique ophtalmologique	
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	
Clinique des maladies mentales	
Physique médicale	
Chimie médicale et pharmaceutique	
Chimie organique et Toxicologie	
Matière médicale et Botanique	
Parasitologie	
Anatomie	
Anatomie générale et Histologie	
Physiologie	
Pathologie interne	
Pathologie externe	
Pathologie et Thérapeutique générales	
Anatomie pathologique	
Médecine opératoire	
Médecine expérimentale et comparée	
Médecine légale	
Hygiène	
Thérapeutique	
Pharmacie	

PROFESSEUR ADJOINT	
Clinique des Maladies des Femmes	LAROYENNE.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES	
Clinique des Maladies des Enfants	MM. WEILL, agrégé CHANDELUX.
Maladies des voies urinaires	LANNOIS. —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	POLLOSSON (A.) —
Accouchements	ROQUE. —
Propédeutique médicale	GANGOLPHE. —
Propédeutique chirurgicale	BEAUVISAGE. —
Botanique	

AGRÉGÉS			
MM.	MM.	MM.	MM.
BEAUVISAGE.	CONDAMIN.	VALLAS.	PAVIOT.
ROQUE.	DEVIC.	SIRAUD.	NOVÉ-JOSSERAND.
ROUX.	COLLET.	DURAND.	BERARD.
POLLOSSON (A.).	BOYER.	DOYON.	SAMBUC.
ROCHET.	BARRAL.	PIC.	BORDIER.
ROLLET	MOREAU.		

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. ARLOING, Président ; M. COURMONT, Assesseur ;
MM. DOYON et PAVIOT, Agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

J'ai à cœur, avant d'entrer dans les détails que comporte le sujet de cette thèse, de rendre un public hommage de reconnaissance à tous ceux qui, pendant le cours de mes études et de mes recherches, m'ont prodigué les ressources précieuses de leurs encouragements et m'ont soutenu de leur bienveillante affection.

Mes remerciements iront tout d'abord à M. le professeur Arloing, Directeur de l'Ecole vétérinaire de Lyon, qui a bien voulu me faire l'honneur d'accepter la présidence à la soutenance de ma thèse.

Ce maître éminent n'a cessé, depuis le jour où j'ai entrepris le présent travail, de m'éclairer de ses conseils avec l'inépuisable sollicitude dont il est coutumier ; et j'ai toujours trouvé, sous l'égide de sa haute notoriété scientifique, le réconfort puissant qui stimule l'esprit et fait barrière au découragement.

Je veux aussi offrir mes respectueux hommages et l'expression de mes sentiments les plus affectueux à mon honoré maître, M. le professeur Peuch, qui m'a toujours témoigné

tant d'intérêt et de bienveillance depuis que j'ai l'honneur d'être sous ses ordres. Je ne saurais trop lui manifester ma gratitude.

Je n'ai garde d'oublier mon excellent ami, M. le professeur H. Boucher, qui a toujours été pour moi d'une bonté et d'une amabilité extrêmes, en mettant à mon entière disposition les ressources de son laboratoire et en m'aidant de ses précieux conseils.

J'adresse également mes plus chaleureux remerciements à tous mes maîtres de la Faculté de Médecine pour leur précieux enseignement.

Mes collègues et amis dévoués MM. Guinard, Carougeau, Porcher et Leblanc m'ont souvent secondé dans les expériences que j'ai faites sans jamais marchander leur temps. Pour leur inépuisable serviabilité et leur extrême obligeance, ils ont droit une fois de plus à mes sentiments de sympathie et à toute mon amitié.

AVANT-PROPOS.

La tuberculose est, on le sait, la maladie qui atteint le plus de sujets dans toutes les espèces à tel point que l'on peut dire, sans être taxé d'exagération, qu'aucun animal un peu élevé dans l'échelle zoologique ne semble devoir échapper à ses coups.

Chez l'homme la mortalité qu'elle entraîne est très considérable et bien digne de mettre en émoi tous ceux qui cherchent à combattre les maladies qui frappent notre espèce. Nous voyons, dans un travail de notre collègue Guinard, qu'à Paris de 1891 à 1897, 83274 existences ont été détruites par la redoutable affection dont la léthalité est plus considérable que celle de toutes les autres maladies épidémiques réunies.

Le même travail indique qu'à Lyon, de 1890 à 1899 soit en dix années, la mortalité totale a été de 92469, dont 15011 par tuberculose.

En France, la tuberculose s'attribue environ le cinquième de la mortalité totale. A Paris, pendant l'année 1897, le quart des décès relève de la tuberculose.

Au point de vue de la mortalité cette maladie devance de beaucoup les affections les plus meurtrières, telles que la peste ou le choléra.

Chez les animaux nous voyons, dans le livre de MM. Nocard et Leclainche, « qu'en ce qui concerne seulement les bovidés c'est par millions que se chiffrent actuellement les malades, toutes les régions du globe sont envahies et partout l'infection suit une effrayante progression. »

Les mêmes auteurs prétendent que l'on peut admettre que chez ces animaux la proportion des tuberculeux atteint certainement 10 % de l'effectif total et qu'elle est vraisemblablement comprise entre 10 et 20 %.

En effet, pour les bovidés « les statistiques publiées ne sauraient donner qu'une idée imparfaite de la gravité économique réelle de la tuberculose, les chiffres recueillis, presque tous empruntés aux statistiques des abattoirs, n'ont qu'une valeur relative. Même dans les pays où l'inspection des viandes est étendue et réglementée, comme dans le grand-duché de Bade et la Saxe, un grand nombre d'animaux, et ceux-là même qui paraissent les plus suspects, sont soustraits par les intéressés au contrôle menaçant des abattoirs surveillés. »

D'autre part, l'emploi de plus en plus répandu et systématique de la tuberculine a montré qu'alors même qu'elle ne se décelait par aucun symptôme clinique, la maladie pouvait exister ; qu'au point de vue de la contamination, les animaux qui ne présentaient aucun signe de suspicion étaient de ce fait les plus dangereux agents de propagation.

Et c'est là le grand avantage de la tuberculine qui, en permettant un diagnostic précoce, permet d'anéantir les malades, de les rejeter de la reproduction, de les

isoler tout au moins; pour ces raisons diverses la tuberculinisation doit être classée comme l'un des moyens les plus précieux de l'hygiène prophylactique des animaux.

Dans les autres espèces, bien que plus faible, le pourcentage est inquiétant, aussi l'extension de la tuberculose est-il une raison plus que suffisante pour légitimer les nombreux travaux qui ont trait à cette « panspermie universelle ».

Dans notre travail, nous avons pris comme matière virulente une culture très active de tuberculose humaine, culture dont il était toujours facile de connaître l'activité.

Nous n'avons pu expérimenter sur le bacille de Velars parce que nous ne possédions pas de cultures actives de ce microbe, et d'autre part, comme on le verra par la suite, nous n'avons pu réussir à créer ce type en partant de nos cultures de tuberculose humaine.

Des cultures venant de M. Dubard nous avaient été remises au début de nos expériences par M. Arloing, mais elles étaient tellement anciennes qu'il a été impossible de les cultiver sur les milieux les plus appropriés.

Les expériences sur la tuberculose des poissons, comme toutes les expériences sur la tuberculose, sont de longue durée et il nous a fallu plusieurs mois pour parcourir notre cycle expérimental. Ceci s'explique par la fragilité de l'animal en expérience.

Quand un sujet meurt spontanément, sa mort

nécessite de nouvelles inoculations et constitue un retard sérieux.

Nos animaux d'expériences ont été la *tanche*, la *carpe*, le *cyprin* et la *grenouille* pour les animaux à sang froid, le *cobaye* et le *lapin* pour les animaux à sang chaud.

Nous avons choisi la tanche comme notre poisson type : 1° parce que la tanche est du même groupe zoologique que la carpe, animal chez lequel MM. Dubard, Bataillon et Terre ont constaté la tuberculose spontanée; 2° parce que la tanche est un poisson très résistant et qu'il est possible de le conserver longtemps vivant dans des conditions qui ne sont pas absolument semblables à celles qu'il rencontre ordinairement.

HISTORIQUE.

La tuberculose des poissons, et plus généralement, la tuberculose des animaux à sang froid, est de connaissance récente.

Le premier travail sur cette question est dû à Verga et Biffi (1868), qui firent des essais d'inoculation de tubercules de provenance humaine à 12 grenouilles. Ces auteurs n'obtinrent aucun résultat.

En 1889, M. Walther R. Sibley, dans *Wirchow's Archiv*, relate une observation de tuberculose chez un serpent(1). Ce cas, unique dans la science, se rapporte à un serpent d'Italie, le « *trepidonotus matrix* » qui mourut dans un jardin zoologique, après quelques mois de captivité. Sur le côté droit du corps, englobant plusieurs côtes, se trouvaient trois tumeurs sous-cutanées, d'autres plus petites étaient disséminées çà et là sous la peau, dans le tissu cellulaire pré-vertébral, derrière les sacs pulmonaires, le long de l'aorte, sur le foie et la rate, etc. Toutes présentaient un contenu caséux et, au microscope, elles se montraient

(1) DURANTE. — Tuberculose des poissons. *Riforma medica*, 1897, 2 août.

constituées par un amas de cellules rondes avec dégénérescence hyaline, entouré d'une mince couche conjonctive.

Il fut impossible de retrouver des cellules géantes ou des cellules épithélioïdes.

A l'aide de la méthode d'Erlich il fut possible de constater l'existence du bacille de Koch.

L'auteur fait remarquer que les serpents vivent en captivité à une température voisine de 20 à 25°, et souvent même plus élevée, ce qui explique la possibilité du développement de la tuberculose chez ces animaux.

Il déduit de ses observations que la maladie doit rester stationnaire pendant la plus grande partie de l'année et évoluer seulement pendant les deux ou trois mois de chaleur estivale.

En 1891, M. Despeignes inocula le virus tuberculeux à des *grenouilles* maintenues entre + 10 et + 25°, à des tritons et à des poissons. Sur les grenouilles et les poissons inoculés par le tube digestif, sous la peau, dans l'œil, dans l'abdomen, etc., jamais l'auteur n'a rencontré de lésions macroscopiques, mais de plus, l'inoculation d'organes des poissons au cobaye n'a pas rendu cet animal tuberculeux. Chez les *grenouilles*, les bacilles étaient susceptibles de continuer à vivre et restaient aptes à tuberculiser le cobaye.

Chez le *triton*, les résultats obtenus étaient identiques à ceux observés avec la grenouille.

Du travail de M. Despeignes, M. Arloing tirait les conclusions suivantes, savoir : « que le bacille tuberculeux peut s'entretenir et pulluler dans l'organisme des animaux à sang froid et, par conséquent,

que le bacille de Koch se passe d'une température de + 30°, lorsqu'il est placé dans un milieu nutritif mieux approprié que nos bouillons de culture ordinaires.

Cela prouve, en outre, que là où il vit il ne provoque pas nécessairement et toujours l'édification néoplasique tuberculeuse. »

Dans le courant de l'année 1892, MM. Lortet et Despeignes, se basant sur les constatations de Pasteur, relatives au rôle des *lombrics* dans la fièvre charbonneuse, recherchèrent si, dans des conditions identiques, l'organisme de ces animaux ne pourrait pas être un réceptacle pour les agents de la tuberculose. Ils établirent que les lombrics, mis en contact dans une matière tuberculeuse, absorbent une grande quantité de bacilles qui se fixent dans les divers tissus, mais surtout dans les organes génitaux sans déterminer aucune lésion. On les trouve réunis en amas entre les divers groupes cellulaires.

Les vers de terre ne livrent pas seulement asile aux agents de la tuberculose, ils les amènent au contact des couches superficielles du sol et il est facile de les retrouver dans leurs déjections.

Les matières excrémentitielles des vers de terre, inoculées à des cobayes, provoquent de magnifiques et nombreuses tuberculoses généralisées.

En 1893, M. Combemale s'est demandé « si le poisson qui, dans certaines régions côtières, entre dans l'alimentation pour une si grande part, n'était pas susceptible de porter le contagion et de devenir cause d'une tuberculose avérée chez l'homme. On pouvait craindre *à priori* qu'il n'en fut ainsi, en voyant des

familles entières de pêcheurs succomber à la tuberculose, en Islande et au Canada en particulier. »

Des *carpes* furent nourries pendant plusieurs mois avec des matières tuberculeuses. D'autres furent inoculées dans le tissu musculaire avec des crachats virulents.

L'autopsie, faite peu de temps après la mort, ne montra aucune néoformation tuberculeuse. Les bacilles trouvés au point d'inoculation, plus de neuf mois après le début de l'expérience, sont rares et ont perdu toute virulence pour le cobaye.

Les expériences de M. Combemale indiquent que « le poisson peut bien porter en lui-même, conserver dans sa forme le bacille tuberculeux, mais qu'il en annihile la vitalité, qu'il détruit complètement la virulence. »

L'auteur conclut que le poisson consommé frais, salé ou fumé, ne doit pas être considéré comme un moyen de propagation de la tuberculose.

Nos expériences, comme on le verra plus loin, corroborent entièrement celles de M. Combemale. Cependant si nous avons obtenu des lésions et le passage en série deux ou trois, suivant le poisson, carpe ou tanche, cela tient sans doute à la grande virulence de la culture que nous avons inoculée et au mode spécial d'inoculation. Nos sujets sont morts dans un délai plus court et le bacille très virulent a pu conserver, pendant deux et trois passages, assez d'activité pour produire des lésions et amener la mort.

Après un nombre restreint de passages, comme on le verra plus loin, les bacilles rencontrés à l'examen microscopique ont perdu toute virulence pour le poisson

et pour le *cobaye*. En somme, si au bout d'un séjour de plus de neuf mois dans l'organisme du poisson, le bacille inoculé par M. Combemale a perdu toute activité ; après 2 ou 3 passages sur le poisson, représentant environ 8 à 10 mois, le bacille de Koch, dans nos expériences, a également perdu toute sa virulence.

Pendant quatre années, aucune observation nouvelle ne parut sur ce sujet, et la question en était là, lorsqu'au mois de mai 1897, MM. Dubard, Bataillon et Terre firent à la Société de biologie une communication importante sur la tuberculose des poissons. Des *carpes*, vivant dans un vivier souillé de crachats d'une personne phthisique, mouraient en présentant, dans la cavité abdominale, des tumeurs volumineuses.

Le frottis des tumeurs traité par la méthode d'Erlich permit de constater la présence de nombreux bacilles de Koch. Ces importantes recherches mirent en évidence les faits suivants : le bacille évolue à basse température ; l'optimum de végétation paraît être à 25° ; les ensemencements à l'abri de l'air restent stériles.

A 23°, les cultures sur *bouillon* sont assez abondantes au bout de trois à quatre jours. Le milieu ne trouble jamais, il se dépose au fond du ballon des flocons plus ou moins volumineux, faciles à dissocier et rappelant assez bien la culture du bacille aviaire. On obtient assez souvent à la surface un voile léger et peu résistant. Sur *pomme de terre*, on voit après trois à quatre jours un semis de colonies blanchâtres, verruqueuses, mais ces grains ne sont pas secs, ils ont la consistance d'un savon.

Le bacille se cultive également bien sur la *gélose*,

moins bien sur *gélatine*. Dans les cultures sur gélose, vieilles de neuf à dix jours, on trouve, au lieu des bacilles typiques, des amas volumineux, simulant de riches dichotomyes, avec des ramifications souvent étirées en pointes.

A 36°, le bacille se cultive difficilement, tout au moins au début, il est nécessaire, pour obtenir des cultures, d'acclimater progressivement l'agent pathogène à une température élevée lentement et progressivement.

Les bouillons sucrés, somatosés ou peptonés et surtout les liquides maltés, prennent, après plusieurs mois de végétation du *bacillus tuberculosis piscium*, une coloration brun noirâtre foncée. L'odeur exhalée par les vieilles cultures liquides, où l'on a détruit le voile par une agitation fréquente, est aigrette, vaseuse, analogue à celle de l'orge germée. Le bacille supporte mal les changements brusques de milieux, il est immobile ou très faiblement mobile dans les cultures liquides laissées au repos. Il paraît mobile, si on empêche son agglutination par une agitation souvent renouvelée.

Les caractères tirés des cultures permettent d'identifier le *bacillus tuberculosis piscium* au *bacille aviaire* ou au *bacille humain*, suivant les conditions de milieu, de température, etc. Les formes involutives sont fréquentes et variées.

Le bacille trouvé par MM. Dubard, Bataillon et Terre n'est primitivement pathogène ni pour le lapin et les oiseaux, ni pour les cobayes et l'homme, mais il est tuberculisant pour beaucoup d'animaux à sang froid.

M. Dubard put rendre au *bacillus tuberculosis piscium* son action pathogène pour le cobaye, en suivant une méthode spéciale.

MM. Auché et Hobbs ont constaté : 1° que la tuberculose humaine après un séjour de 20, 43 et 60 jours chez la grenouille détermine chez les cobayes des lésions de tuberculose généralisée ;

2° Que les bacilles restent vivants chez la grenouille pendant au moins 60 jours ;

3° Que la virulence des bacilles s'atténue sensiblement par leur séjour dans l'organisme de la grenouille.

En 1898, MM. Ramond et Ravaud ont obtenu, à l'aide des cultures de *bacillus tuberculosis piscium*, une tuberculine, dont les effets chez les animaux tuberculeux sont les mêmes que ceux déterminés par la tuberculine de Koch. 3

Bataillon et Terre ont pu contaminer des carpes par l'ingestion de produit provenant de cobayes tuberculeux. Pour eux, aucun caractère morphologique ne permet de distinguer les cultures du *bacillus tuberculosis piscium* initial de celles du bacille tuberculeux humain qui a passé sur la carpe. La tuberculose de la carpe leur paraît être une forme saprophytique de la tuberculose humaine, forme à laquelle on pourrait revenir par passage sur des animaux à sang-froid, aussi bien avec la tuberculose aviaire qu'avec la tuberculose humaine (Bataillon et Terre). Ces auteurs pensent que bien des cas de pseudo-tuberculose observés sont des tuberculoses vraies, ayant pour agent l'une des nombreuses formes du bacille de Koch.

D'un autre côté, MM. Nicolas et Lesieur ont soumis pendant plusieurs mois des carpes et des cyprins à une ingestion journalière de crachats tuberculeux. Jamais les poissons en expérience n'ont présenté de lésions tuberculeuses macroscopiques, mais leurs tissus pouvaient conserver pendant plusieurs mois des bacilles virulents qui, inoculés, donnaient au cobaye une tuberculose plus ou moins grave.

Tout récemment, MM. Auché et Hobbs ont vu qu'en inoculant la grenouille dans l'abdomen avec des cultures de tuberculose humaine, on détermine la production de granulations très nettes. La même expérience faite avec le bacille aviaire ne leur a donné aucun résultat.

La survie des grenouilles infectées est très longue : 158 jours dans leur expérience. Cette survie a été la même pour les animaux inoculés avec la tuberculose aviaire que pour ceux inoculés avec la tuberculose humaine.

20, 43 et 158 jours après l'injection intra-péritonéale à la grenouille, MM. Auché et Hobbs ontensemencé, sur gélose glycinée, des granulations prises à la surface du foie et écrasées préalablement entre deux lames de verre stérilisées. La plupart des tubesensemencés sont restés stériles, sur quelques-uns ont apparu des microbes vulgaires n'ayant aucun des caractères du bacille isolé par MM. Bataillon, Dubard et Terre.

Des cobayes inoculés avec des granulations des mêmes grenouilles devinrent tuberculeux,

L'évolution de la maladie s'est faite suivant le type ordinaire.

Il a semblé cependant qu'il y avait diminution de la

virulence des bacilles par le passage sur la grenouille. Les auteurs concluent à la non transformation chez la grenouille jusqu'au 158^e jour de la tuberculose humaine en tuberculose pisciaire.

A la suite de l'inoculation intra-péritonéale de tuberculose humaine chez la grenouille, MM. Auché et Hobbs ont vu que les granulations se développent exclusivement autour des gros amas bacillaires et jamais autour des bacilles isolés ; que les lésions sont identiques dans les tubercules nouveaux ou anciens ; que les lésions, déterminées par l'inoculation de tubercules vivants, étaient identiques à celles produites par celles de bacilles morts.

Ils concluent que le bacille tuberculeux humain ne se multiplie pas chez la grenouille à la température ambiante.

Pour la tuberculose aviaire les faits paraissent encore plus évidents puisque, dans beaucoup de cas, il n'y a même pas développement de granulations tuberculeuses.

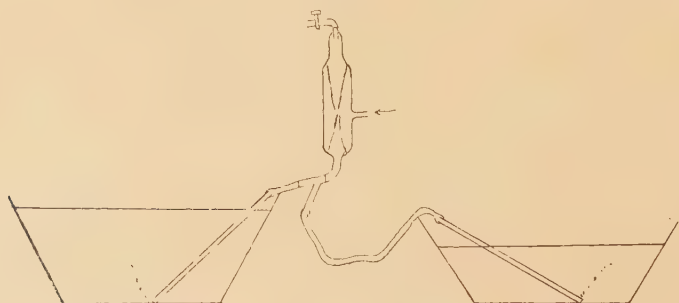
ÉTUDE EXPÉRIMENTALE.

Il est difficile de conserver pendant longtemps des poissons vivants sans avoir recours à certains artifices expérimentaux.

Le poisson placé dans un récipient suffisamment spacieux, dans lequel se produit un courant d'eau continu, a besoin d'air, étant donné que dans les vases qu'il est possible d'utiliser dans les laboratoires, la surface de contact avec l'air est restreinte relativement à la masse liquide et que, d'autre part, l'eau qui arrive en courant continu provient des conduites dans lesquelles elle n'a aucun contact avec l'air.

Aussi, dès le début de nos expériences, avons-nous vu nos poissons succomber rapidement. M. Arloing, à qui nous fîmes part de cet écueil, nous en indiqua tout à la fois la cause et le remède. En effet, lorsque nous avons pu faire arriver, grâce au dispositif signalé plus bas, une quantité d'air suffisante, la mortalité spontanée cessa d'une façon à peu près complète.

Voici le dispositif que nous avons adopté :



Grâce à l'emploi de la trompe, on faisait arriver, en même temps que le courant d'eau, de nombreuses bulles d'air qui aéraient suffisamment le liquide.

Grâce à un branchement latéral, il était possible d'avoir plusieurs récipients recevant le mélange d'air et d'eau, ce qui permettait de diviser les animaux en lots. Les animaux étaient ensuite marqués par un trou fait à l'emporte-pièce, au milieu d'une des nageoires.

Outre les poissons maintenus dans les conditions qui viennent d'être indiqués à la température ambiante, nous avons placé plusieurs de ces animaux dans l'eau à température constante, 18 à 20°.

A cette température, l'apport de l'air est encore plus nécessaire que pour la température ordinaire et sans cette condition les animaux meurent rapidement.

Aussi, pour cela, nous avons adopté le dispositif suivant :

Notre appareil de chauffage à température constante a été l'étuve d'Arsonval convenablement disposée. Un manomètre à eau, gradué à l'avance, permet de modifier l'arrivée du gaz de façon à maintenir la température constamment voisine de 18 à 20°.

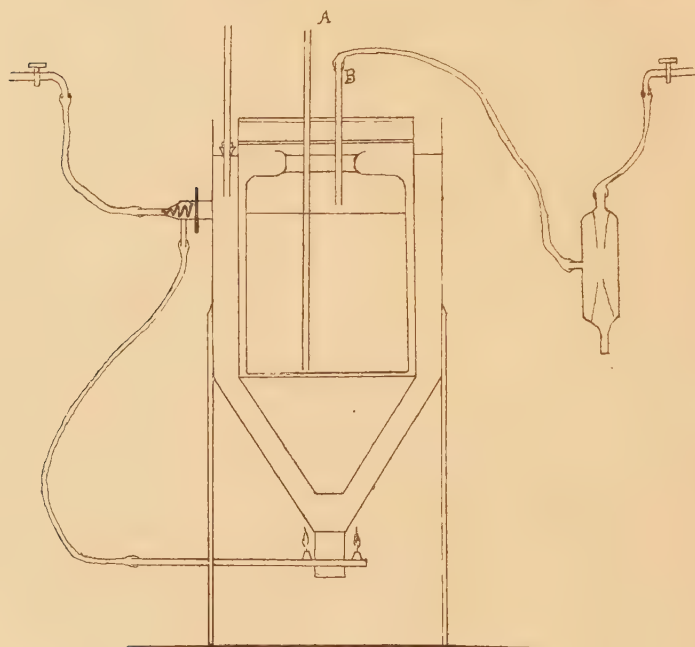
Le flacon, remplissant complètement la cavité interne de l'étuve est muni d'un bouchon, dans lequel passent deux tubes :

1° Un tube A communiquant avec l'extérieur et plongeant jusqu'au fond du bocal ;

2° Un tube B n'effleurant pas la surface de l'eau et mis en communication avec une trompe à eau, réglée de façon à ce qu'il passe dans le bocal 6 litres d'air environ par heure.

Ces dispositions matérielles étaient nécessaires afin de pouvoir conserver pendant longtemps les animaux en expérience.

En effet, les poissons vivent difficilement lorsqu'on les soustrait à leurs conditions ordinaires d'existence.



Or, il est important de conserver vivant ces animaux pendant plusieurs mois. Nous rappelons que les sujets sur lesquels ont porté nos expériences sont pour les animaux à sang froid : la *tanche*, la *carpe*, le *cyprin doré* et la *grenouille* ; pour les animaux à sang chaud : le *lapin* et le *cobaye*.

But des expériences.

Notre but en instituant nos expériences a été de voir :

1° Quelle était la réceptivité de certains animaux à sang froid pour la tuberculose humaine.

2° Quelles modifications de virulence était susceptible de subir le bacille de Koch par son passage chez les animaux inoculés.

3° Si, au cas d'atténuation, cette atténuation était suffisante pour diminuer ou abolir la réceptivité des animaux à sang chaud pour le bacille de la tuberculose des mammifères.

4° Si, en passant par l'organisme du poisson, le bacille de Koch acquerrait des caractères particuliers dans sa végétabilité et sa virulence qui en fassent une variété spéciale bien caractérisée.

Il fallait, pour réaliser notre programme, partir d'un agent à virulence type qui nous servirait de point de comparaison.

Notre produit à virulence type a été constitué par une culture très active de tuberculose humaine qui nous a été remise par M. Arloing.

Il s'agissait d'une culture très vivace datant de un mois, faite sur pomme de terre glycélinée.

Les injections d'une assez grande quantité de culture émulsionnée dans l'eau stérilisée, comme celles des produits d'organes tuberculeux, ont toujours été prati-

quées à l'aide de la seringue Pravaz dans la cavité abdominale des animaux à sang froid et sous la peau de la région de l'aîne chez les animaux à sang chaud.

Afin d'augmenter les chances de succès, les inoculations chez les animaux à sang froid ont toujours été pratiquées à des séries comprenant 10 à 12 sujets.

RÉCEPTIVITÉ DE CERTAINS ANIMAUX A SANG FROID POUR LE BACILLE DE KOCH TRÈS VIRULENT.

A. — Inoculation à la tanche.

L'inoculation d'une assez forte quantité de culture Arloing est pratiquée, comme il a été dit, dans la cavité abdominale de 10 tanches bien portantes.

Les animaux inoculés sont placés dans un bassin où l'eau et l'air arrivent d'une façon continue.

Trois de ces animaux sont trouvés morts le septième jour. A leur ouverture, on rencontre dans la cavité abdominale un exsudat rougeâtre baignant tous les organes, ces derniers ayant en certains points des adhérences faibles avec la face interne de la paroi abdominale. Le foie et la rate sont congestionnés.

L'examen microscopique montre, après coloration selon la méthode d'Erlich, des bacilles tuberculeux isolés dans l'exsudat et dans la rate. On n'aperçoit dans les organes aucune trace de lésion granuleuse. Les autres inoculés succombent : 3 le 18^e jour, 1, le 22^e, 1 le 25^e et 1 le 45^e jour après l'inoculation. La tanche morte le 45^e jour présente les lésions les plus prononcées, que je considère comme les lésions types de la tuberculose chez cet animal.

La cavité générale est remplie de fausses membranes d'un blanc grisâtre. Ces fausses membranes sont résistantes, presque scléreuses, elles unissent en un amas inextricable tous les organes entre eux et adhèrent fortement aux parois costo-abdominales. Le foie et la rate particulièrement sont criblés de fins tubercules grisâtres plus petits qu'une tête d'épingle.

A l'examen microscopique, le frottis des fausses membranes ne présente que de rares bacilles. Par contre, le frottis de la rate et du foie en montre beaucoup. Ces microbes se colorent parfaitement par la méthode d'Erlich. Ils semblent généralement un peu plus longs que ceux que l'on rencontre chez le cobaye, quelques-uns sont plus courts. La plupart sont granuleux. M. Arloing, à qui nous avons montré les préparations, a parfaitement reconnu qu'il s'agissait du bacille de Koch.

Des coupes faites dans la rate établissent l'existence de tubercules ayant une disposition analogue à celle de la granulation grise des mammifères.

Donc l'injection intra-abdominale chez la tanche d'une dose notable de culture virulente du bacille humain, donne chez cet animal des lésions identiques à celles des mammifères.

Sur la tanche qui a succombé le 66^e jour on trouve à l'autopsie les organes digestifs rapetissés, couverts de fausses membranes jaunâtres, résistantes. Le foie et la rate sont parsemés, à leur surface et dans leur épaisseur, de fines granulations blanchâtres très nombreuses. Au niveau de la paroi costale droite on constate des adhérences très résistantes entre le foie et

la paroi. En tirant sur la paroi, le foie se déchire et une partie reste adhérente à la fausse membrane.

Le frottis des fins tubercules de la rate et du foie, examiné au microscope après coloration suivant la méthode d'Erich, présente beaucoup de bacilles spécifiques granuleux et un peu plus gros que d'ordinaire.

Un cobaye inoculé en même temps et comparative-ment avec la même culture, mais sous la peau, est mort le 16 mai, soit 45 jours après l'inoculation et a présenté à l'autopsie les lésions confluentes ordinaires de la tuberculose.

B. — Inoculation à la carpe.

Avec la même culture que pour la série précédente, et suivant la même technique, on inocule une assez forte quantité de culture Arloing diluée, dans la cavité abdominale d'un lot de 10 carpes.

Les animaux meurent du 28^e jour au 88^e jour.

Sur les carpes mortes dans les 40 premiers jours on rencontre des fausses membranes grisâtres, épaisses et un exsudat plus ou moins grisâtre, semi-liquide, abondant, constitué par des cellules isolées et des fibrilles. Ces fausses membranes, qui recouvrent tous les organes et en forment une masse informe, renferment peu de bacilles.

Les bacilles sont plus abondants dans le foie et dans la rate, ils y sont disséminés. Ces organes ne présentent pas de tubercules visibles à l'œil nu, ils sont plutôt congestionnés.

Sur les carpes mortes du 40^e au 88^e jour, on voit à l'ouverture de la cavité abdominale que les organes sont réunis par des fausses membranes grisâtres ou jaunâtres, résistantes, réunissant les viscères à la paroi.

La paroi costo-abdominale est recouverte de fausses membranes grisâtres, très résistantes ; si l'on détache cette production, elle se montre irrégulière, elle a perdu son poli normal et présente de nombreuses arborisations constituées par de fins vaisseaux dont la teinte rouge tranche nettement sur le fond mat de la région.

Le foie et la rate sont augmentés de volume, parsemés de fines granulations blanchâtres, très petites, n'atteignant pas le volume de la tête d'une épingle.

Avec le frottis des fausses membranes et des organes (foie et rate), on fait des préparations qui, après coloration à l'erlich, montrent la présence de bacilles tuberculeux de volume un peu différent : les uns sont plus grêles et plus longs, les autres un peu plus volumineux et granuleux.

Si l'on pratique des coupes dans le foie et la rate après durcissement, on rencontre des tubercules ayant la constitution générale des tubercules des mammifères. Toutefois, la couche des cellules épithélioïdes est peu marquée, on note surtout autour du nodule de nombreuses cellules rondes.

En résumé, la *carpe*, comme la *tanche*, est susceptible, lorsqu'elle est inoculée avec une culture très virulente, de contracter une tuberculose qui se manifeste à l'autopsie par des lésions analogues à celles de la tuberculose des mammifères.

C. — Inoculation au cyprin.

Avec notre culture type et suivant la même technique, nous inoculons dans la cavité abdominale, 11 cyprins dorés bien portants et de moyenne grosseur.

Sur ces 11 animaux, 3 meurent dans les huit premiers jours. Ils ne présentent rien d'intéressant à l'autopsie, toutefois, on rencontre quelques rares bacilles dans l'exsudat rosé et trouble qui se trouve dans la cavité abdominale. Il est même nécessaire de faire plusieurs préparations pour en rencontrer. Le frottis des organes tels que le foie et la rate ne montre aucun germe spécifique.

Quatre cyprins meurent du 20^e au 27^e jour. A leur ouverture, on rencontre un exsudat rougeâtre, trouble, peu abondant, dans la cavité abdominale. En certains points, l'exsudat est caséux et recouvre les organes. Le foie et la rate ne présentent aucune lésion macroscopique à leur surface ou sur la coupe. Toutefois, ces organes sont assez fortement congestionnés.

Un des animaux survivants meurt le 35^e jour, un deuxième le 43^e, un troisième le 47^e jour, et le dernier le 51^e jour après l'inoculation.

Sur ces sujets, mais plus spécialement sur les deux derniers, nous voyons à l'autopsie des lésions identiques à celles de la tanche morte le 61^e jour, c'est-à-dire présence de fausses membranes grisâtres, adhérentes, résistantes, dures, reliant entre eux les organes et adhérant fortement à la paroi.

Fins et nombreux tubercules dans le foie et surtout dans la rate. Ces tubercules ont à la coupe une constitution analogue à celle des mêmes productions dans les mammifères. Par coloration, suivant la méthode spéciale, on trouve de nombreux bacilles généralement plus gros et plus granuleux que chez le cobaye qui a succombé à l'inoculation du bacille de Koch.

En résumé, le *cyprin*, comme la tanche et la carpe, est susceptible de contracter, par la méthode que nous avons employée, une tuberculose semblable, quant aux lésions, à la tuberculose des mammifères.

D. — Inoculation à la grenouille.

Cette série comprend 10 grenouilles qui ont été inoculées suivant notre méthode, c'est-à-dire dans la cavité abdominale, avec une assez grande quantité de culture type diluée dans un peu d'eau stérilisée.

Dans nos expériences, les grenouilles se sont montrées, de tous les animaux à sang froid sur lesquels nous avons expérimenté, ceux qui ont présenté la plus grande résistance.

La survie a été en général très longue, en moyenne de 127 jours.

Pendant que l'animal est sous le coup de l'infection, il maigrit progressivement, au point d'avoir pour ainsi dire la peau collée aux os. Souvent aussi, à partir du 3^e mois, on constate de l'anasarque aux quatre membres.

L'œdème ainsi formé est constitué par un liquide incolore ou légèrement citrin ne renfermant pas (tout au moins dans nos essais) de microbes. En effet, nous avons fait, pour plusieurs sujets, un grand nombre de préparations avec l'œdème obtenu par une piqûre pratiquée à la peau d'un membre et jamais nous n'avons rencontré de bacille. Parallèlement à l'anasarque, on voit se prononcer de plus en plus, une maigreur qui devient extrême et l'animal succombe aux progrès de la cachexie.

Sur les animaux morts dans les deux premiers mois ou plus tard, on constate que le foie a une coloration foncée qui tranche avec la pâleur des tissus. Le mésentère présente de fines granulations tuberculeuses.

Les mêmes lésions existent à la surface des organes et, en particulier, du foie. Ces tubercules sont constitués par des cellules rondes, situées autour d'un amas de bacilles.

Avec le frottis du foie on fait des préparations qui, après coloration, présentent de rares bacilles souvent contenus dans les leucocytes.

En résumé, l'inoculation d'une culture très virulente de bacille tuberculeux humain, dans la cavité abdominale de la grenouille, détermine la production de granulations tuberculeuses beaucoup plus rares que chez les poissons sur lesquels nous avons expérimenté.

L'animal ne semble pas mourir du fait de la confluence des lésions, mais d'une cachexie progressive.

INFLUENCE DE LA CHALEUR.

Etant donné que le bacille de Koch végète surtout à une température voisine de 37-38°, on était en droit de se demander si en maintenant les animaux à sang froid à une température plus élevée que la température ambiante, on n'accélérerait pas la marche de la maladie en en diminuant la durée.

L'expérience suivante répond à la question :

Un lot de 10 cyprins inoculés dans la cavité abdominale avec une assez forte quantité de culture de *M. Arloing*, sont placés dans l'étuve d'Arsonval, adaptée comme il a été dit plus haut. La température est portée et maintenue vers 18 à 20°. La température ambiante étant seulement de 10 à 12°.

Les animaux avaient été au préalable adaptés progressivement à leur nouvel habitat. Dans ces conditions, la survie la plus longue a été de 35 jours. Deux animaux moururent le 2^e jour, trois du 5^e au 11^e jour, trois du 22^e au 27^e, deux du 29^e au 35^e jour.

Sur les cinq premiers sujets, on ne constatait rien de saillant à l'ouverture de la cavité abdominale et à l'examen des organes. Sur les trois autres, il fut facile de relever l'existence de fausses membranes d'un blanc grisâtre, épaisses, englobant les organes. A la surface du foie et de la rate, il existait de fines granulations, de même que dans la profondeur de ces organes. Sur

les deux derniers sujets, mêmes lésions, fausses membranes plus sèches, plus résistantes, adhérentes aux organes et aux parois de la cavité abdominale.

Par frottis des fausses membranes et de la pulpe de la rate et du foie et après coloration, suivant la méthode d'Erlich, on obtient des préparations dans lesquelles il est facile de constater l'existence de bacilles de Koch, qui, à un fort grossissement, paraissent généralement un peu épais et granuleux. Avec les tubercules écrasés, les bacilles sont plus nombreux, en amas, contenus souvent dans les cellules.

De ces expériences, il semble donc résulter que la chaleur diminue légèrement la durée moyenne de la maladie, puisque dans ce cas, la survie la plus longue a été de 35 jours au lieu de 51 jours dans les expériences sur les sujets maintenus à la température ordinaire.

LÉSIONS de la TUBERCULOSE chez le POISSON.

L'inoculation de culture active du bacille de tuberculose humaine par injection intra-abdominale chez la carpe, la tanche et le cyprin, détermine le développement de lésions bien nettes.

Dans les premiers jours, du 2^e au 10^e, on constate l'apparition dans l'abdomen d'un épanchement rousâtre, d'autant moins coloré qu'il est plus ancien. Vers le vingtième jour, des fausses membranes apparaissent d'abord molles, peu consistantes, grisâtres, qui recouvrent les organes et les réunissent. Progressivement, ces fausses membranes évoluent, deviennent plus consistantes, se soudent à la face interne des parois de la cavité, au point d'y contracter des adhérences qu'il est impossible de rompre sans déchirure des organes et en particulier du foie. En même temps, apparaissent, à la surface et dans l'épaisseur du foie et de la rate, des granulations d'abord grisâtres, ensuite blanchâtres ; granulations très fines, d'un volume moindre que celui d'une tête d'épingle et qui ont la constitution ordinaire des tubercules. La rate surtout semble être le siège de prédilection de ces néoformations.

L'examen microscopique, suivant la technique spéciale, permet de constater dans les lésions la présence du bacille de Koch. Avec les progrès de la maladie, les organes abdominaux sont de plus en plus enserrés



LESIONS DE LA TUBERCULOSE CHEZ UNE TANCHE MORTE 45 JOURS APRES UNE INOCULATION INTRA ABDOMINALE
D'UNE CULTURE DE TUBERCULOSE HUMAINE TRÈS VIRULENTE.

L'exsudat blanc-grisâtre, qui recouvre les organes et en particulier le foie, adhère fortement à la paroi.
La rate, rendue intentionnellement plus visible, présentait à sa surface un grand nombre de fins tubercules.

dans les fausses membranes et constituent, à la mort du sujet, une masse informe, dans laquelle il est souvent impossible de séparer les organes englobés.

La vessie natatoire elle-même est enserrée et son fonctionnement est gêné, ce qui explique que souvent, pendant les quelques jours qui précèdent la mort, le poisson reste sans mouvement, soit au fond de l'eau, soit à la partie supérieure.

Nous n'avons pas rencontré de lésions sur le cœur et sur les branchies.

Durée de la maladie. — Chez la carpe, comme chez la tanche, la durée de l'affection ne semble pas être inférieure à un mois, elle peut dépasser trois mois. Elle est d'autant plus courte que le produit inoculé est plus abondant et plus virulent.

MODIFICATIONS DANS LA VIRULENCE DU BACILLE INOCULÉ AU POISSON PAR PASSAGES SUCCESSIFS.

Nous devons nous demander si, en passant par l'organisme du poisson, le bacille de Koch avait sa virulence modifiée pour cette espèce et si, d'autre part, cette virulence augmentait ou diminuait parallèlement pour les mammifères. Nos expériences ont porté : 1° sur la tanche; 2° sur la carpe; 3° sur le cobaye; 4° sur le lapin.

A. — Inoculations en séries de tanche à tanche.

Nous transcrivons le protocole de quelques expériences seulement, les résultats étant constamment identiques.

Après avoirensemencé des milieux artificiels, comme nous le verrons plus loin, on prend la moitié des organes d'une tanche de la première série qui a succombé aux suites de l'inoculation intra-abdominale de la culture qui nous a été fournie par M. Arloing. Cette portion d'organes et de fausses membranes est triturée et filtrée, en ayant soin de prendre toutes les précautions antiseptiques habituelles pour ce genre d'opérations.

a) Le produit de filtration est injecté à raison de 1/2 centimètre cube par animal dans la cavité abdominale de six tanches.

Trois sujets succombent du cinquième au septième jour. A leur autopsie, faite immédiatement après la mort, on ne constate qu'un épanchement un peu rougeâtre, les organes sont congestionnés. A l'examen microscopique, après coloration, on trouve dans le liquide épanché des leucocytes et des bacilles libres.

Une tanche succombe le trente-et-unième jour. Ses lésions ont une évolution très avancée, les fausses membranes sont grisâtres, consistantes, elles recouvrent tous les organes; à la surface du foie et de la rate, ainsi que dans leur épaisseur, on trouve de petits tubercules riches en bacilles.

Les deux derniers sujets meurent le 49^e et le 57^e jours. Leurs lésions ressemblent à celles du précédent, avec cette différence que les fausses membranes sont plus scléreuses et adhèrent fortement aux organes et aux parois; les tubercules plus gros et plus nombreux.

b) Après prise des matières nécessaires auxensemencements, la moitié des organes et des lésions du sujet mort le dernier est traitée comme précédemment et on inocule une nouvelle série de six tanches.

Ces animaux succombent les 3^e, 17^e, 38^e, 52^e, 63^e et 81^e jours.

Chez les sujets morts les 52^e, 63^e et 81^e jours, les lésions sont le plus prononcées, moins toutefois que chez les tanches mortes les dernières de la série précédente. Ainsi, chez ces animaux, on ne rencontre pas de tubercules dans l'épaisseur du foie et de

la rate. Il existe seulement des fausses membranes d'un gris jaunâtre, peu épaisses, peu résistantes ; l'exsudat qui recouvre le foie est moins abondant.

A l'examen microscopique du frottis de foie et de fausses membranes, on rencontre de rares bacilles qui, à un fort grossissement, paraissent granuleux ; ces bacilles sont isolés, non rassemblés.

c) Avec les lésions et les organes de ces animaux, préalablement traités comme d'habitude, on inocule une troisième série de six tanches. Ces sujets succombent : un le deuxième jour ; un le vingt-quatrième jour ; un le cinquante-septième jour. Les autres après trois mois.

La tanche morte le vingt-quatrième jour avait dans la cavité abdominale un léger épanchement ascitique rosé qui, à l'examen microscopique, laissait voir de rares bacilles granuleux. Le sujet mort le cinquante-septième jour présentait un léger exsudat grisâtre adhérent au foie et aux autres organes. Pas de tubercules sur le foie. A l'examen microscopique, très peu de bacilles dans l'exsudat que recouvre le foie et la rate.

Les trois tanches qui complétaient cette série furent tuées au bout de trois mois. A l'autopsie elles n'ont présenté aucune lésion. A l'examen microscopique il a été impossible de déceler des bacilles de Koch.

d) Après ensemencement, les organes de la tanche précédente, traités comme d'habitude, servent à inoculer six nouvelles tanches.

Ces animaux ont succombé : une le treizième jour ; une le vingt-neuvième jour. A leur autopsie nous n'avons pas rencontré de lésions, sauf un peu de sérosité

citrine dans l'abdomen. Cette sérosité ne renfermait que quelques granulations mais pas de bacilles de Koch.

Les quatre autres tanches de la série ont été tuées le soixante-douzième jour. Elles n'ont présenté aucune lésion macroscopique et aucun bacille dans leurs organes.

De ces inoculations en série, il est donc permis de conclure que la tuberculose humaine ne semble pas s'acclimater sur la tanche et qu'elle devient pour cet animal de moins en moins virulente, puisque sa puissance pathogène est, peut-on dire, presque nulle dès le troisième passage.

B. — Inoculations en séries de carpe à carpe.

Le résumé des expériences faites sur la tanche, dans le but de constater les modifications de la virulence du bacille de Koch par des passages successifs, nous dispense de décrire longuement celles que nous avons pratiquées sur la carpe.

a) Comme pour la tanche nous avons inoculé :

Six carpes avec le produit de filtration des organes d'une des carpes ayant présenté le maximum de lésions à la suite de l'injection intra-abdominale de tuberculose Arloing.

De ces six sujets, deux succombèrent le 7^e jour et ne présentèrent qu'un peu de liquide roussâtre dans la

cavité abdominale. Le liquide de cet épanchement, examiné au microscope après coloration, montre l'existence de nombreux bacilles et de leucocytes.

Deux autres moururent le 68^e et le 81^e jour ; un troisième le 91^e jour et le quatrième, le 103^e jour. Tous ces animaux présentaient, comme dans l'inoculation primitive, des fausses membranes gris-blanchâtre, épaisses, dures, résistantes, réunissant entre eux les différents organes de la cavité abdominale et adhérant fortement aux parois.

Dans l'épaisseur de la rate et du foie, comme à leur surface, on note l'existence de nombreux et fins tubercules blanchâtres.

Ces tubercules, du volume d'une tête d'épingle au maximum, présentent à la coupe les caractères du tubercule des mammifères.

A l'examen, après coloration du frottis de la rate et du foie notamment, on nota la présence de nombreux bacilles granuleux, souvent réunis en petits amas, quelquefois isolés.

b) Après ensemencement, on prend la moitié des organes et lésions d'une des carpes les plus atteintes et l'on inocule, en suivant la même technique, six nouvelles carpes.

De ces six animaux, quatre meurent dans les 5 premiers jours. On ne trouve à leur autopsie qu'un peu d'exsudat rosé dans l'abdomen (1). Les deux autres sont tués le 118^e jour et on pratique aussitôt leur autopsie. Il fut alors possible de constater l'existence d'un

(1) Cet exsudat renferme quelques bacilles isolés.

léger exsudat blanchâtre et résistant, à la surface des organes. Les tubercules du foie et de la rate sont très rares, très petits.

L'examen microscopique montre, dans les nodules et dans l'exsudat, des bacilles en petits amas dans les premières lésions, isolés dans la seconde.

Sur des coupes faites dans la rate, on voit que les petits tubercules sont constitués par un centre caséux entouré de petites cellules rondes. C'est dans cette couche surtout que se trouvent les bacilles, généralement contenus dans l'intérieur des cellules.

Autour des nodules, et malgré la coloration faite avec soin, il nous a été impossible de rencontrer de bacilles.

c) Dans une troisième série on pratique, comme précédemment, une inoculation sur 6 carpes, pesant chacune 300 grammes environ.

De ces 6 animaux, 3 succombent dans les 8 premiers jours. A l'autopsie, on ne rencontre aucune lésion macroscopique.

A l'examen microscopique du frottis de foie ou de rate, on ne perçoit aucun bacille; dans une seule préparation, obtenue avec le produit de râclage de la surface de la paroi abdominale, on rencontre deux ou trois bacilles granuleux prenant mal la réaction d'Erlich.

Les trois autres carpes de la série succombèrent du 39^e au 43^e jour, et ne présentèrent rien à l'ouverture de la cavité abdominale et à l'examen microscopique.

La mort relativement rapide de ces 3 animaux s'explique l'existence d'une sorte de matière visqueuse, d'origine parasitaire, qui envahit progressivement toute la surface du corps.

Cette maladie, beaucoup plus fréquente sur la tanche, avait été communiquée aux carpes par une tanche qui en était elle-même atteinte.

Comme on le voit par l'ensemble des expériences qui viennent d'être relatées, il nous a été impossible d'acclimater le bacille de Koch sur la tanche et sur la carpe. Jamais, à la suite de nos inoculations, nous n'avons pu obtenir la forme de lésions trouvées par MM. Bataillon, Dubard et Terre. Nous ne pouvons donc pas dire que le bacille de Koch, en passant par l'organisme de la carpe et de la tanche, prend des caractères d'individualité et de virulence qui le spécialisent. Peut-être la divergence de nos résultats avec ceux des expérimentateurs dijonnais, tient-elle à ce que ces derniers ont expérimenté sur un bacille depuis longtemps acclimaté sur la carpe.

M. Dubard, en effet, déclare « que le type bacillus tuberculosis hominis injecté aux animaux à température variable, prend le type pisciaire si la transformation et l'adaptation ont été complètes, grâce au temps du séjour ou au nombre de passages ».

Nous avouons que dans nos expériences sur les inoculations de poisson à poisson de bacille humain, il nous a été impossible d'obtenir cette fixité.

INFLUENCE DE L'ORGANISME DE LA TANCHE.

Nous nous sommes demandé si, en passant par l'organisme du poisson, le bacille subissait une diminution dans sa virulence susceptible, lorsqu'il serait reporté sur le cobaye, de ne donner à cet animal qu'une maladie bénigne, non mortelle. Pour répondre à cette question nous avons successivement inoculé à des cobayes des lésions de tanches mortes de tuberculose après un ou plusieurs passages.

Pour avoir un point de comparaison, nous avons tout d'abord inoculé un cobaye, sous la peau de l'aîne, avec une petite quantité de la culture de tuberculose qui nous avait été remise par M. Arloing.

L'animal en expérience succombe 40 jours après son inoculation. A l'autopsie, on rencontre les lésions les plus caractéristiques de la tuberculose, lésions trop connues pour que nous ayons à les décrire. Des préparations, faites avec le frottis des différents organes ou lésions, permettent de voir après coloration de nombreux bacilles de Koch.

Avec les lésions et les organes d'une tanche ayant succombé 45 jours après l'inoculation dans la cavité abdominale d'une assez forte quantité de culture de tuberculose de M. Arloing, on prépare un liquide que l'on injecte sous la peau de la cuisse gauche de deux cobayes.

Au bout de 6 à 8 jours on constate, au point d'inoculation, un nodule du volume d'un pois; cette tuméfaction ganglionnaire s'étend, s'accroît en volume et s'ulcère vers le 25^e jour.

Les bords de la plaie sont déchiquetés, saillants, l'accident local présente en un mot les caractères de l'ulcère tuberculeux.

Les animaux maigrissent peu à peu et succombent, le premier le 45^e jour et le deuxième le 51^e jour.

A l'autopsie on constate que le système ganglionnaire est atteint, l'épiploon, ratatiné, rempli de tubercules, est transformé en une masse informe, indurée; le péritoine pariétal est lui-même couvert de tubercules de volume variable et caséeux à leur centre, le foie est considérablement hypertrophié, il a pris une teinte d'un brun rougeâtre, il est parsemé de masses jaunâtres, caséeuses. La rate est considérablement hypertrophiée, farcie d'une infinité de fins tubercules blanchâtres, plus ou moins agglomérés. L'examen microscopique, après coloration convenable du produit raclé sur la coupe, des tubercules et des organes lésés, montre une infinité de bacilles de Koch. Leur volume est normal ainsi que leurs dimensions.

Avec le produit de trituration du foie, de la rate et du poumon des deux cobayes précédents, on inocule à nouveau deux cobayes neufs sous la peau de la cuisse.

Après avoir présenté les phénomènes locaux ordinaires, les deux animaux succombent le 38^e et le 46^e jour après l'inoculation. Leur autopsie, pratiquée immédiatement après la mort, permet de constater les lésions les plus caractéristiques de la tuberculose et l'examen microscopique montre les bacilles de Koch.

Un cobaye inoculé avec les organes des deux précédents, et suivant la même technique, succombe le 70^e jour. Il présente à l'autopsie des lésions les plus caractéristiques de la tuberculose avec prédominance sur l'appareil pulmonaire.

Comme précédemment, l'examen microscopique laisse voir le bacille de Koch.

On voit donc que la virulence du bacille de la tuberculose des mammifères ne s'est pas modifiée, que tout au moins il ne s'est pas produit d'atténuation vis-à-vis du bacille, bien entendu dans les conditions dans lesquelles nous nous sommes placé. Nous n'avons pas cru devoir continuer à inoculer en série de nouveaux cobayes, les faits que nous avons relatés ont suffi pour nous créer une conviction.

La tuberculose expérimentale de la tanche est donc susceptible de contaminer le cobaye par une inoculation sous-cutanée lorsque cette tanche a été elle-même rendue tuberculeuse par une injection intra-péritonéale de culture du bacille de Koch.

Voyons maintenant si le phénomène inverse se produit. Il devrait, a priori, se produire si la tanche est véritablement réceptible. On triture et on filtre les foies, rates et poumons de deux cobayes, le liquide de filtration sert à inoculer 4 tanches et 4 carpes.

Les animaux succombent du 9^e au 35^e jour.

Tous ces poissons présentent, dans la cavité abdominale, un exsudat puriforme blanc, peu épais, ressemblant un peu à l'exsudat que l'on voit dans certain cas chez le cobaye qui succombe à la pneumo-entérite expérimentale.

Chez les carpes, principalement, on a noté dans les derniers jours de la vie une augmentation de volume de l'abdomen, à tel point que, frappé par ce phénomène, nous pensions trouver, au moment de l'autopsie, des grosses tumeurs analogues à celles qui ont été décrites par MM. Dubard, Bataillon et Terre, sur les carpes de Velars ; mais nous fûmes déçu dans notre attente, pas la moindre tumeur n'existait dans la cavité abdominale. Le liquide blanchâtre épanché était abondant, 5 à 10 centimètres cubes, suivant les sujets mais, toutes choses égales d'ailleurs, beaucoup plus prononcé chez les carpes que sur les tanches.

D'autre part, les organes, tant à leur surface que dans leur profondeur, ne présentaient pas de nodules simulant les nodules tuberculeux.

A l'examen microscopique de l'exsudat, et après coloration suivant la méthode d'Erlich, il fut impossible de déceler le bacille de Koch.

L'examen du frottis des organes fut suivi du même insuccès.

Mais si les bacilles spécifiques semblaient faire défaut, d'autres germes étaient en grand nombre, principalement de gros et courts bacilles, des streptobacilles et des microcoques. Tous ces germes, colorés en bleu, se différenciaient nettement du bacille de Koch.

Avec les lésions produites par le 2^e passage du bacille tuberculeux sur la tanche on inocule deux cobayes. Ces deux sujets succombent du 47^e au 83^e jour et présentent à l'autopsie des lésions nettes de tuberculose des mammifères.

Les lésions des cobayes précédents, inoculées au poisson, carpe et tanche, ne déterminent pas la mort et sur les animaux tués après trois mois, on ne rencontre aucune des lésions de la tuberculose.

Les organes d'une tanche inoculée en 3^e passage et tuée plus de deux mois après la contamination servent à inoculer deux cobayes. Ceux-ci n'ont pas contracté la tuberculose ainsi que l'autopsie faite plus de deux mois après l'inoculation l'a démontré.

Loin de nous la pensée d'induire de ces expériences que l'injection de parties d'organes ou de lésions tuberculeuses du cobaye, dans la cavité abdominale de la tanche et de la carpe, ne soit jamais suivie de tuberculose. Non, mais nous pensons que ces expériences montrent que lorsque l'on inocule dans la cavité abdominale d'une tanche ou d'une carpe, un produit tuberculeux renfermant d'autres germes à côté du bacille de Koch, il y a des chances de voir le bacille de la tuberculose rester inactif, ou tout au moins de voir son action masquée par les germes qui l'accompagnent.

Il semble également résulter de ces expériences, que la réceptivité de la carpe et de la tanche, pour le bacille de Koch, est faible et que la maladie a d'autant plus de chance de se développer que les espèces microbiennes sont moins nombreuses et les bacilles de Koch plus actifs.

INFLUENCE DE L'ORGANISME DE LA CARPE.

Nous avons vu précédemment qu'à la suite d'un seul passage dans l'organisme de la tanche, le bacille de Koch conservait toute sa virulence initiale pour le cobaye.

L'organisme de la carpe a-t-il dans le même sens plus d'influence ? C'est ce que nous allons voir par les expériences suivantes :

Sur une carpe, morte le 88^e jour après l'inoculation dans la cavité abdominale d'une assez forte quantité de culture Arloing, et présentant des lésions abondantes avec nombreux bacilles spécifiques, nous prenons une partie des organes et des fausses membranes.

Le tout est trituré dans un mortier en porcelaine, puis filtré sur un linge stérilisé. Un centimètre cube de liquide filtré est injecté sous la peau de l'aine de deux cobayes.

Les jours suivants, on constata au point d'inoculation le développement de noyaux du volume d'un haricot, résultant de l'infection ganglionnaire par le produit injecté.

Sur l'un des cobayes, le ganglion, devenu caséeux, s'ulcéra le 33^e jour, laissant à sa place une plaie ulcéreuse de la largeur d'une pièce de 50 centimes. Un peu en avant, il existait, comme chez l'autre cobaye d'ailleurs, une pléiade de ganglions moins volumineux, durs et roulant sous le doigt.

Les deux sujets inoculés maigrirent peu à peu, et l'un d'eux succomba le 53^e jour après son inoculation.

Le second présenta une paraplégie des deux membres postérieurs le 73^e jour. Depuis cette date, jusqu'à sa mort, l'animal se traînait péniblement sur les deux membres postérieurs, sans que ces organes puissent prendre une part quelconque à la locomotion ou à la station. Il mourut le 79^e jour, et son autopsie fut pratiquée 12 à 15 heures après.

Les lésions étaient des plus abondantes et des plus caractéristiques. Tous les ganglions étaient pris, le foie, la rate et le poulmon hypertrophiés, durs, se montraient criblés de zones caséeuses, blanchâtres. L'épiploon était réduit à une masse informe par les tubercules agglomérés.

L'examen microscopique, pratiqué selon la manière habituelle, confirma le diagnostic, en montrant, après coloration spéciale, de nombreux bacilles de Koch.

D'ailleurs, l'inoculation faite avec les produits de cet animal à un autre cobaye amena la mort de ce dernier 67 jours après l'inoculation. L'autopsie montra qu'il s'agissait bien de la tuberculose ordinaire des mam-mifères.

Donc, après un passage sur la carpe, le bacille de la tuberculose humaine ne cesse d'être ce qu'il était, il tue le cobaye dans un laps de temps ordinaire et avec les lésions courantes de l'affection.

Dans une autre série d'expériences, nous nous sommes servi comme matière infectante des organes et lésions d'une carpe morte le 87^e jour après l'inoculation de produits virulents puisés chez un animal de cette espèce ; c'est-à-dire, en un mot, que nous avons pris comme virus une matière résultant de l'action de

deux passages successifs sur la carpe. L'inoculation a été faite, selon la même technique, à deux cobayes.

Au bout de quelques jours, les phénomènes locaux constatés furent les mêmes que chez les premiers cobayes, mais les ganglions ne s'ulcérèrent pas.

Après avoir manifesté les symptômes généraux que l'on voit d'habitude, les deux cobayes succombèrent le 47^e jour et le 79^e jour. L'autopsie montra chez les deux sujets les lésions ordinaires de la tuberculose : tubercules sur l'épiploon, dans la rate, le foie, le poumon, etc.

L'examen microscopique fait selon la manière habituelle décèle la présence, dans les lésions, de nombreux bacilles de Koch.

Avec les organes d'une carpe tuée le 118^e jour et inoculée en troisième passage, on prépare un produit que l'on inocule à trois cobayes selon la manière habituelle.

Du 5^e au 8^e jour, on voit une petite tuméfaction grosse comme une lentille se former au point d'inoculation, mais ce noyau rétrocede et disparaît presque complètement du 15^e au 25^e jour. A ce moment on ne perçoit au toucher qu'un peu d'épaississement du tissu sous-cutané.

Les trois animaux continuent à se bien porter, ils ne semblent pas être sous le coup d'une infection tuberculeuse.

Le 89^e jour, on en tue un et on en pratique l'autopsie. Les organes des cavités abdominale et pleurale ne

présentent aucune lésion microscopique. Au niveau du point d'inoculation on trouve un noyau conjonctif scléreux, épaissi.

L'examen microscopique des produits de raclage du foie, de la rate et du point d'inoculation ne décèle la présence d'aucun bacille spécifique.

Il semble donc que les cobayes de cette série n'ont pas été contaminés. Ont-ils acquis une certaine immunité pour le bacille de Koch ?

Pour s'en assurer, on inocule les deux cobayes survivants avec une faible dose de culture virulente et ils succombent dans le courant du deuxième mois à une tuberculose typique, non douteuse, contrôlée par l'inoculation et par l'examen microscopique.

D'après nos essais, il semble donc que le bacille de Koch ne subit pas, par son passage à travers la carpe, d'atténuation notable. Il reste avec toute sa virulence ou complètement inactif et dans ce dernier cas il ne donne aucune immunité à l'animal inoculé.

CULTURES SUR LE MAMMIFÈRE

APRÈS PASSAGE DU BACILLE PAR L'ORGANISME DU POISSON.

On pouvait se demander si la perte de virulence du bacille après son troisième passage chez la tanche était définitive ou passagère. Et si dans ce dernier cas, il ne serait pas possible de lui faire récupérer sa virulence primitive en le faisant cultiver dans des conditions spéciales comme cela se passe pour certains germes.

Pour élucider ce point, nous avons pratiqué des cultures sur l'animal vivant, à l'aide de sacs en collodion suivant le procédé qui a été mis en pratique depuis quelque temps.

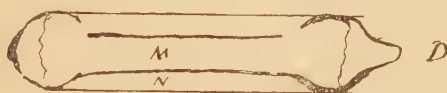
A cet effet, nous nous sommes servi du dispositif suivant. Nous avons préparé des petits tubes de verre de 2 centimètres $1/2$ environ et présentant un renflement sphérique de 5 à 6 millimètres de diamètre, à chacune de leurs extrémités. Près du point d'union de chaque boule avec le tube intermédiaire existe un petit pertuis qui permet la communication de l'intérieur du tube avec l'extérieur.

Les deux extrémités C et D ont été scellées à la lampe après introduction du liquideensemencé. Celui-ci peut donc séjourner à la fois dans le tube de verre et sous l'enveloppe de collodion.

La préparation en est facile, il faut avoir le soin d'effiler le tube au delà de l'une des boules afin de pouvoir facilement pratiquer l'obturation à la lampe quand le moment est venu. La partie du tube laissée ouverte est munie d'un tampon de coton.



- AA' — Ouverture laissant communiquer l'intérieur du tube avec l'extérieur.
B. — Lamé de collodion entourant le tube primitif et laissant entre les deux parois un espace vide.
C. — Extrémité fermée à la lampe.
F. — Tampon de coton.



Pour préparer l'enveloppe il suffit de répandre sur une lame de verre très propre, légèrement enduite de vaseline pour empêcher les adhérences, une couche de collodion ordinaire.

La dessiccation doit se faire dans un endroit un peu frais pour éviter la formation des bulles produites par l'évaporation trop rapide de l'éther.

Au bout de quelques jours, la couche de collodion est réduite à une membrane de l'épaisseur d'une feuille de papier fin.

On prend alors un rectangle de cette feuille de collodion et on entoure le tube et les 2 boules. On maintient

l'adhérence parfaite en collant avec un peu de collodion liquide. Au bout de quelques heures, l'adhérence est forte et l'appareil est constitué.

Pour s'en servir, il faut au préalable le stériliser. Pour cela, après avoir placé un tampon de coton à l'ouverture du tube terminal, l'appareil est placé dans l'autoclave et on en pratique la stérilisation.

On ensemence alors un ballon ordinaire avec la matière à étudier et, à l'aide d'une pipette stérilisée, on introduit dans l'appareil à culture le bouillon tout ensemencé. Il suffit alors de fermer en D à la flamme d'une lampe à alcool.

Nos expériences ont été faites sur le lapin et le cobaye.

La matière virulente employée comme semence a été fournie par l'exsudat et les organes d'une tanche de la 3^e série morte au 57^e jour. L'ensemencement ayant été fait selon la manière habituelle dans du bouillon glycéринé contenu dans un ballon Pasteur; — une petite quantité (environ 2 cent. cubes $1/2$) du bouillon ensemencé fut placée dans plusieurs tubes préalablement stérilisés comme il a été dit.

Le lapin ou le cobaye étant couché sur le côté droit et la région convenablement rasée et aseptiée, on pratique une incision de 2 centimètres dans la région du flanc. Cette incision comprend tous les plans de la paroi abdominale. A l'aide du doigt on perfore le péritoine et par l'ouverture ainsi faite on enfonce dans la cavité abdominale le tube garni de son bouillon ensemencé.

Deux points de suture et une application de collodion iodoformé sur les lèvres de la plaie, constituent un pansement suffisant. L'opération se fait très facilement et est généralement des plus simples, quant à ses suites

Les animaux, 4 lapins et 4 cobayes, furent conservés dans les conditions habituelles pendant un temps qui a varié du 25^e jour au 60^e jour.

Tous les 5 jours un animal, successivement cobaye et lapin, était tué.

Le premier cobaye, tué 25 jours après l'inoculation, ne présentait aucune lésion macroscopique de tuberculose. Au milieu des anses intestinales, enveloppé dans du tissu fibreux, le tube fut trouvé.

Après avoir brisé l'une des extrémités, le liquide qu'il renfermait, environ 2 c.c. fut inoculé en partie dans la cavité abdominale d'un cobaye neuf, en partie dans la cavité abdominale d'une tanche et de deux cyprins.

Ces quatre sujets furent conservés dans leurs conditions habituelles de vie, excepté l'un des cyprins qui fut maintenu à une température de 18 à 20°.

Ces animaux succombèrent ou furent tués dans l'espace de deux mois.

Aucun ne présentait à l'autopsie, quelle que soit l'époque de la mort, de lésions macroscopiques de tuberculose, l'examen microscopique de préparations faites avec les raclages d'organes ne décela aucun bacille de Koch.

Les sept autres séries d'expériences analogues donnèrent des résultats identiques.

Nous devons dire cependant que, dans certaines de nos séries, les poissons sont quelquefois morts avant le terme fixé pour la fin de l'expérience.

Nous estimons donc que le bacille de la tuberculose humaine n'a pas semblé subir une atténuation du fait de son passage par l'organisme du poisson;

qu'il se conserve chez cet animal avec sa virulence presque entière ou bien complètement abolie. Dans ce dernier, cette propriété n'est pas récupérée par la culture sur le mammifère.

CULTURES SUR MILIEUX ARTIFICIELS.

1° CULTURES FAITES APRÈS LE 1^{er} PASSAGE DU BACILLE SUR LA TANCHE.

Milieus. — Les milieux dont nous nous sommes servi pour la culture du bacille de la tuberculose ont été des milieux glycérisés :

1° Le bouillon de bœuf, glyceriné et peptoné préparé suivant le procédé de Nocard et Roux ;

2° La gélose glycerinée et peptonée ;

3° La pomme de terre cuite et imprégnée de bouillon glyceriné et peptoné.

Les matièresensemencées proviennent des lésions des carpes ou tanches, inoculées d'après la méthode que nous avons décrite dans ce travail.

Chez la tanche, comme chez la carpe, les lésions des 1^{re}, 2^e séries nous ont donné, sur gélose glycerinée maintenue à 37°, des cultures avec les caractères suivants : du 10^e au 18^e jour, on a vu apparaître à la surface des petits points isolés de grandeur inégale, de couleur grisâtre ou blanchâtre. Ces grains sont secs. Peu à peu, les grains s'étendent, se confondent et arrivent à couvrir la plus grande partie de la surface de culture. En même temps, les grains deviennent plus saillants. L'ensemble de la culture est irrégulière, présentant un grand nombre de petites saillies arrondies, verruqueuses.

La culture est sèche, mate. A l'examen microscopique d'une parcelle de cette culture, on rencontre le bacille de Koch avec ses caractères habituels.

A partir du troisième passage, nous n'avons obtenu aucune culture de tuberculose.

a). **Culture sur gélose glycinée et peptonée.** — Le milieu a été préparé selon la méthode ordinaire et distribué dans les tubes *ad hoc* employés dans les laboratoires.

La matière à ensemercer a été empruntée, selon la technique habituelle, à l'aide d'une pipette stérilisée ou du fil de platine, aux lésions, fausses membranes et aux organes atteints, foie et rate.

Pour avoir quelque chance d'obtenir des résultats précis, il faut ensemercer une dizaine de tubes. Sur ce nombre, il arrive que cinq ou six ne donnent rien.

Les tubesensemencés ont été maintenus les uns à une température de 36-38°, les autres à la température ordinaire. Nous savons que le bacille de MM. Dubard, Bataillon et Terre est susceptible de se développer à basse température (1).

Parmi les tubes maintenus à l'étuve, quatre ont été, dans les premiers jours, 3^e, 4^e, 5^e, 6^e, le siège de végétations, constituées au début par de petites colonies blanchâtres, lisses, qui envahissaient bientôt toute la surface de la gélose.

(1) Le bacille décrit par MM. Bataillon, Dubard et Terre, cultive très bien de 10 à 30° avec un optimum entre 22°-27°. A partir de 34° la végétation cesse ou devient très lente.

Contrairement à ce qu'ont obtenu ces auteurs, nos tubes ensemencés, maintenus à la température ambiante, n'ont pas cultivé, excepté trois qui ont présenté, vers le 5^e ou le 7^e jour, de petits points blanchâtres, lisses, couvrant en quelques jours toute la surface de la gélose.

L'examen microscopique de ces cultures a montré des microbes différant absolument, quant à la forme, du bacille de Koch.

Mais, comme il pouvait s'agir de formes involutives, dont la physionomie est souvent très dissemblable de la forme type, avec une parcelle de ces cultures diluée dans l'eau distillée, on inocula des cobayes, un pour chaque tube siège de végétation.

Les 3 inoculés présentèrent au point d'inoculation un petit abcès qui s'ouvrit au dehors sans laisser par la suite aucune lésion ganglionnaire.

Ces animaux vécurent dans une santé parfaite jusqu'à la fin du deuxième mois, époque à laquelle ils furent sacrifiés.

A l'autopsie, il fut impossible de découvrir une lésion macroscopique de tuberculose.

De nombreuses préparations faites avec le tissu de la rate ne permirent de rencontrer aucun bacille de Koch.

Les tubes qui avaient été le siège de végétation à la température ordinaire ne renfermaient donc pas de bacilles de Koch.

Par contre, ceux qui avaient cultivé à la température de 36°-38°, et qui présentaient des cultures ayant

les caractères précédemment indiqués, étaient bienensemencés avec le bacille spécifique de la tuberculose.

En effet, l'examen microscopique d'une petite parcelle de culture montra, après coloration, un feutrage de bacilles.

D'autre part, les cobayes au nombre de 8, inoculés avec une petite quantité de ces cultures, dans le tissu conjonctif sous-cutané, moururent du 55^e au 77^e jour et présentèrent, à l'autopsie, les lésions les plus évidentes de la tuberculose des mammifères. L'examen microscopique du produit de râclage des lésions et des organes atteints décela l'existence du bacille de Koch.

b). Culture sur bouillon glycérimé et peptoné. — Nous avons employé le bouillon de bœuf additionné de glycérine et de peptone, préparé selon le procédé décrit par MM. Nocard et Roux.

L'ensemencement se fit avec les mêmes produits et selon la même technique que pour les tubes de gélose.

Les ballonsensemencés furent divisés en deux lots égaux. Chaque lot comprenant 8 ballons.

Un lot placé dans l'étuve à 36°-38°, un lot maintenu à la température du laboratoire.

Dans le premier lot, 4 ballons se troublèrent en masse pendant les 3 ou 4 premiers jours.

Au fond, il se déposait une couche peu épaisse de fines granulations et la partie supérieure du bouillon s'éclaircit.

Deux ballons ne furent le siège d'aucune végétation.

Les deux derniers présentèrent au fond du ballon de petites masses arrondies, irrégulières, le bouillon resta clair sur toute sa hauteur. La matière ensemencée ayant été déposée au fond du vase, on ne vit pas la production d'une pellicule blanc-grisâtre, superficielle.

Dans le deuxième lot, deux ballons seulement se troublèrent en masse, un dépôt pulvérulent se déposa au fond du ballon, par l'agitation le bouillon devenait beaucoup plus trouble.

L'examen microscopique démontra après coloration que les quatre ballons du premier lot, qui s'étaient troublés rapidement et en masse, étaient peuplés de germes de formes variées, microcoques, diplocoques, n'ayant aucun rapport avec le bacille de Koch.

Les deux ballons qui, dans le deuxième lot, étaient le siège de pullulation microbienne, se montrèrent peuplés des mêmes germes que les quatre précédents.

Au contraire, l'examen microscopique des petites masses muriformes des deux ballons du premier lot montra, après écrasement et coloration, l'existence de nombreux bacilles de Koch.

D'ailleurs l'inoculation des cultures des différents ballons qui avaient été le siège d'une végétation, confirma les données fournies par le microscope. Ces deux ballons du premier lot, qui seuls renfermaient des amas de bacilles tuberculeux, permirent de tuberculiser les cobayes par l'injection sous-cutanée d'une faible quantité de culture. Tous les autres cobayes, sans exception, qui avaient été inoculés avec les bouillons troublés, survécurent, et tués ne présentèrent aucune des lésions de la tuberculose.

c). **Culture sur pomme de terre glycerinée.** — Les pommes de terre convenablement choisies et préparées sont divisées en tranches. Ces tranches sont introduites dans un tube ad hoc semblable à celui généralement employé dans les laboratoires. On place ensuite une petite quantité de bouillon de bœuf glyceriné et peptoné dans la partie du tube située au dessous de l'étranglement.

Après avoir placé à l'extrémité supérieure du tube un tampon de coton, on en pratique la stérilisation à l'autoclave.

Plus que pour les autres milieux peut-être, il est nécessaire d'éprouver les tubes pendant quelques jours avant de les ensemer, parce que assez souvent, au bout de quelques jours, la pomme de terre est envahie par un mycelium qui la recouvre bientôt en entier. Les tubes qui présentent cette altération doivent être rejetés. Pour éprouver les tubes il suffit de les placer pendant une huitaine de jours à l'étuve à 38°. Si au bout de ce temps la pomme de terre ne présente aucune végétation, il y a beaucoup de chances pour qu'elle soit stérile.

Pendant la période de végétation du germe inoculé il est indiqué d'incliner de temps à autre le tube, afin de permettre au liquide qui se trouve à la partie inférieure d'humecter la pomme de terre.

Comme précédemment la matière ensemenée a été empruntée aux fausses membranes et aux organes (foie, rate).

Les tubes ensemenés ont été divisés en 2 lots, de 8 chacun. Le premier lot a été maintenu à l'étuve à 36-38°, l'autre a été laissé à la température du laboratoire.

Dans le premier lot, deux tubes n'ont présenté aucune végétation — quatre se sont recouverts dans les 3 à 4 premiers jours d'une culture blanche, lisse, unie, s'étendant rapidement.

Toutefois l'un de ces derniers présenta en un point, du 15^e au 18^e jour, une petite saillie, blanc-jaunâtre, irrégulière, qui était constituée, ainsi que l'examen microscopique l'a démontré, par des bacilles tuberculeux.

L'inoculation de cobayes avec une petite quantité de culture ne produisit chez les animaux en expérience aucune maladie. Au bout de deux mois, on les tua et on ne constata à l'autopsie aucune lésion tuberculeuse.

L'inoculation faite avec la culture impure du tube précité détermina un accident local et la production de lésions typiques de tuberculose.

Les deux derniers tubes du premier lot permirent de constater l'apparition, à la surface de la pomme de terre, du 15^e au 20^e jour, de petits points blanc-jaunâtres, saillants, irréguliers, secs. Ces points se réunirent progressivement et constituèrent une couche sèche, irrégulière, épaisse, blanchâtre, saillante par places.

Une parcelle de cette culture inoculée à deux cobayes produisit chez ces animaux les signes locaux et généraux de la tuberculose.

Un de ces cobayes succomba le 67^e jour après l'inoculation (1).

(1) Le second cobaye est mort, le 4^e jour après l'inoculation, d'une façon accidentelle.

D'autre part l'examen microscopique de la culture et des lésions présentées par les animaux d'expérience leva tous les doutes en montrant sur les préparations de nombreux bacilles de Koch typiques.

Dans le deuxième lot de tubes, cinq ne présentèrent aucune trace de végétation. Les cinq autres montrèrent, à la surface des tranches de pomme de terre, une culture blanche, lisse, très envahissante, évoluant très rapidement et ayant débuté du 4^e au 6^e jour.

L'examen microscopique permet de voir, après coloration, des microbes variés, généralement petits, n'ayant aucune ressemblance avec le bacille de Koch.

Des cobayes inoculés sous la peau avec une assez forte quantité de culture ne présentèrent rien d'anormal. Ils furent tués au bout de deux mois et à leur autopsie on ne rencontra aucune trace de tuberculose.

En résumé aucun caractère signalé par M. Dubard.

2° CULTURES FAITES APRÈS LE 2^{me} PASSAGE DU BACILLE SUR LA TANCHE.

Les milieux employés, les matières ensemencées ont été les mêmes que pour les cultures de la série précédente.

Les résultats ont été, d'une façon générale, identiques à ceux qui ont été signalés plus haut. Toutefois les milieux ayant cultivé le bacille de Koch ont été moins nombreux que dans la première série.

3^e CULTURES FAITES APRÈS LE 3^me PASSAGE DU BACILLE SUR LA TANCHE.

Les résultats obtenus dans cette série, montrent qu'aucun des milieux n'a cultivé le bacille de Koch spécifique ; par contre nous avons obtenu des cultures d'aspect différent dues à la prolifération de microbes divers ainsi que l'ont établi l'examen microscopique et les inoculations infructueuses faites sur le cobaye.

Les cultures faites sur les tubes maintenus à la température ordinaire n'ont présenté aucun des caractères des cultures des bacilles de Velars.

L'inoculation à forte dose de ces cultures à des poissons et à des cobayes a toujours été suivie d'insuccès.

4^e APRÈS PASSAGES DU BACILLE SUR LA CARPE.

Les milieux de culture employés ont été les mêmes que dans les expériences précédentes. Ils ont été soumis par lots égaux, soit à une température constante de 36-38°, soit à une température basse, température du laboratoire.

La matièreensemencée, comme précédemment, a été empruntée aux fausses membranes et à la pulpe d'organes, foie et rate. Les examens microscopiques et les inoculations de contrôle sur le cobaye ont été faits également suivant la technique que nous avons exposée plus haut.

Nous ne transcrivons que les différences des résultats obtenus ; la plupart du temps, ces résultats étant identiques à ceux obtenus avec les cultures provenant de la tanche.

Pour les cultures après le premier et le deuxième passage, les résultats sont absolument comparables à ceux obtenus avec la tanche. A signaler toutefois que souvent les microbes vulgaires, obtenus dans les milieux où l'on ne rencontrait pas le bacille de Koch, ont été différents quant à l'aspect des cultures et à la forme des germes trouvés chez la tanche.

Ces microbes vulgaires, rencontrés isolément ou associés au bacille de Koch, ont donc varié avec l'espèce de poisson considérée.

Un tube a même cultivé un germe pathogène pour le cobaye, mais l'animal a succombé en quatre jours avec des lésions absolument différentes de celles de la tuberculose.

Les cobayes inoculés avec les cultures présentant macroscopiquement et microscopiquement l'aspect de celles du bacille de Koch et qui sont morts ou ont été tués, ont présenté des lésions non douteuses de tuberculose.

Pour les milieuxensemencés avec les organes de la carpe du troisième passage, ils n'ont présenté, ceux qui ont végété, que des cultures de microbes vulgaires, je veux dire différents du bacille spécifique. Les cobayes inoculés avec les quelques cultures obtenues de cette série, ont survécu, et, tués dans le cours ou à la fin du deuxième mois, ils n'ont présenté aucune trace de lésion de tuberculose typique.

Nous sommes donc autorisé à penser, d'après nos essais, qu'en passant sur la carpe ou la tanche, le bacille de Koch très virulent ne cesse pas, tant qu'il est

vivant, de rester identique à lui-même, qu'il ne présente pas de forme atténuée ou de virulence modifiée, puisqu'inoculé au cobaye, il tue toujours avec les lésions ordinaires de la tuberculose des mammifères, et que si l'animal ne succombe pas on ne rencontre aucune lésion légère ou confluyente de bacillose.

On voit également qu'il peut se rencontrer avec des germes étrangers différents de forme et non virulents d'une façon très générale (sauf un cas sur lequel nous nous sommes expliqué).

A l'encontre de M. Dubard, nous n'avons pas pu cultiver à la température ordinaire le bacille tuberculeux ayant passé sur le poisson.

Les repiquages des cultures n'ont pas changé la forme des germes vulgaires et n'ont pas modifié leur virulence pour le cobaye comme dans les expériences de M. Dubard.

Jamais les cultures de microbes que nous considérons comme étrangers n'ont formé de voile à la surface du bouillon, comme M. Dubard l'a constaté avec son microbe. Jamais non plus ces bouillons n'ont présenté la teinte brune noirâtre comme l'a vu M. Dubard.

Nous n'avons jamais constaté l'odeur spéciale émanant de ces cultures (étrangères).

Nous n'avons pas essayé de faire des cultures dans le vide, leur aspect (cultures étrangères) n'a jamais ressemblé à celui des cultures de bacille humain.

Nous n'avons pas rencontré les formes involutives, anormales signalées par MM. Dubard et Kral.

Il ne nous a pas été permis d'assister à la production de grains semblables à ceux de l'actinomyose.

Nos expériences n'ont pas porté sur les cultures type de Velars et, par conséquent, nous n'avons pu essayer d'augmenter leur virulence, jusqu'à les rendre pathogènes pour le cobaye.

M. Dubard transforme le bacille humain en bacille pisciaire, mais il faut pour cela un agent peu actif, car, dit-il, « jamais nous n'avons pu obtenir de transformation en nous servant de produits tuberculeux purs, c'est-à-dire fortement adaptés à un sol » : c'est probablement la raison qui explique notre insuccès.

CONCLUSIONS.

I. — La tuberculose humaine en culture très virulente, inoculée dans la cavité abdominale de certains animaux à sang froid : carpe, tanche, cyprin, grenouille, est susceptible de les contaminer.

II. — La tuberculose transmise expérimentalement au poisson est susceptible de se reproduire en série chez cet animal pendant un nombre de passages très court.

III. — Le bacille humain, en passant par l'organisme du poisson, ne semble pas s'atténuer pour le cobaye. Au cas où le bacille qui a subi plusieurs passages sur le poisson ne donne pas la tuberculose au cobaye, il ne donne pas davantage à ce dernier l'immunité contre la maladie.

IV. — L'organisme du poisson constitue pour lui un très mauvais milieu de culture dans lequel il perd rapidement sa virulence et sa végétabilité.

V. — Le bacille qui a passé sur le poisson garde sa végétabilité, tant qu'il reste virulent et, dans ce cas, il cultive comme le bacille des mammifères.

Il ne pousse pas à la température ordinaire, sur les milieux de culture généralement employés.

VI. — Le bacille humain, en passant par l'organisme du poisson, ne semble pas, dans les conditions où nous avons expérimenté, se transformer en une variété particulière.

Il ne semble pas acquérir des formes nouvelles par suite de son séjour dans l'organisme du poisson.

Le bacille qui ne tue plus le poisson ne récupère pas sa virulence par la culture sur les mammifères.

VII. — Le bacille humain, en culture très active, ne produit pas, chez le poisson, des lésions analogues à celles décrites par M. Dubard et trouvées par lui sur des carpes qui avaient contracté spontanément la tuberculose.

Par contre, il détermine des lésions macroscopiques analogues à celles de la tuberculose des mammifères. Elles existaient toujours dans nos expériences, alors que MM. Nicolas et Lesieur n'en ont jamais obtenu dans leurs essais de contamination par ingestion.

VIII. — L'élévation de la température chez le cyprin semble diminuer la durée de la maladie.

IX. — Les lésions provenant de cobayes tuberculeux, inoculées à des poissons, font le plus souvent mourir les sujets d'expérience d'infection autre que la tuberculose.

Nous inclinons donc à penser que le bacille type de Velars, décrit par M. Dubard, n'est pas le bacille de la tuberculose des mammifères, mais plutôt un bacille pseudo-tuberculeux, comme en ont rencontré déjà un grand nombre d'auteurs.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
ARLOING.

Vu :

LE DOYEN,
LORTET.

Vu, et Permis d'imprimer :

LE RECTEUR,
Président du Conseil de l'Université,
G. COMPAYRÉ.

BIBLIOGRAPHIE.

ARLOING. — Leçons sur la tuberculose et certaines septicémies.
Paris. 1892.

Id. — Comptes rendus de l'Académie des Sciences. 1878.

NOCARD et LECLANCHE. — Les maladies microbiennes des animaux. Paris. 1898.

LEDoux-LEBARD. — *Annales de l'Institut Pasteur*. 1897.

LORTET et DESPEIGNES. — *Bull. Soc. de Médecine*. 1892.

DUBARD, BATAILLON et TERRE. — Soc. biologie. 1897.

DUBARD. — *Revue de la tub.* 1898.

DUBARD. — *Revue médicale*. 1898.

DUBARD. — *Bull. Ac. méd.* 1897-1898.

DUBARD et KRAL. — *Revue de la tub.* 1898.

MOSNY. — *Revue de la tub.* 1898.

DESTOT. — *Lyon médical*. 1897.

STRAUS. — *Archives de méd. expérimentale*. 1896.

STRAUS. — La tub. et son bacille. Paris. 1895.

COMBEMALE. — *Revue de la tub.* 1893.

DURANTE. — *Riforma medica*. 1897.

RAMOND et RAVOUT. — Soc. de Biol. 1898.

DUBARD. — *Province médicale*. 1897.

DUBARD. — *Bulletin médical*. 1897.

- BATAILLON et TERRE. — *Gazette hebdomadaire*. 1897.
BATAILLON et TERRE. — *Ac. des Sc.* 1898.
LEDOUX-LEBARD. — *Soc. Biol.* 1893.
BATAILLON et TERRE. — *Soc. Biol.* 1899.
AUCHÉ et HOBBS. — *Soc. Biol.* 1899.
Congrès de la tubercul. 1898.
MÖLLER. — *Berlin, thierarztl. Woch.* 1898.
NICOLAS et LESIEUR. — *Soc. Biol.* 1899.
WALTHER-SIBLEY. — *Virchow's Arch.* 1889.
BATAILLON et TERRE. — *Ac. des Sc.* 1897.
AUCHÉ et HOBBS. — *Soc. Biol.* 1898.
AUCHÉ et HOBBS. — *Revue de la tub.* 1898.
DUBARD, BATAILLON et TERRE. — *Bull. Ac. de Médecine*. 1897.
Revue de la tub. 1893 à 1899 inclus.
GUINARD. — *Curabilité et traitement de la tuberculose*. 1900.
-

